中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 46(2)：190～206 (1997)

氣霧式叢枝內生菌根種源生產技術之研究[1]

吳繼光　林素禎　張秀月　邱春華　林淑媛[2]

摘要：本研究以甕菜、百喜草及甘藷爲宿主，先行在溫室內接種內生菌根菌兩週後，移植於氣霧式生長箱內進行無土栽培。營養液係使用修正之霍格藍液。綜合14次的生產試驗，已證實氣霧式生長箱可培養*Glomus aggregatum, G. mosseae, G. geosporum, G. microaggregatum, G. intraradices, G. pansihalos, G. manihotis, Acaulospora laevis, Entrophospora kentinensis* 等九種菌種。且以 *Glomus microaggregatum* 的產孢量最高。由於目前世界上以氣霧式生長箱所生產的菌種，只限於 *Glomus* 屬，本所所成功培養的 *Entrophospora, Acaulospora* 兩屬孢子，是目前世界上首次成功的先例。此外，*Entrophospora kentinensis* 也是我國所發現的世界新種，以往本屬的菌種全世界只有三種，且全是分佈於酸性土壤中。而 *E. kentinensis* 不只分佈於酸性土壤中，它亦可出現在鹼性或中性靠海邊的地區，尤有甚者，本種可在重金屬銅的污染達233 ppm 以上的土壤中發現。此外，本次試驗結果顯示百喜草的產孢能力較其它宿主如甕菜及甘藷等爲佳。

關鍵詞：叢枝內生菌根菌、氣霧式栽培、菌根種源、內柄生孢子屬、無柄孢子屬、繡球屬。

前　言

菌根(Mycorrhiza)一詞係由德國植物學家 A. B. Frank[1]所創，意指植物根部與眞菌共生的結合體。此種共生的現象可以追溯到五億年前泥盆紀的原始植物，雷尼蕨[15]。在化石中可以清楚看到菌根菌的菌絲、叢枝體、囊泡、孢子等構造分佈在植物體的莖部與地下根部細胞中。菌根大體上可分爲外生(ectomycorrhiza)與內生菌根(endomycorrhiza)兩大類[4]。外生菌根的主要特徵在於植物根端外圍有菌絲纏繞而成的菌氈(hyphal mantle)包裹，菌根的菌絲並不侵入植物細胞內；但在根的橫切面上可看到皮層細胞間有由菌絲組成的哈氏網(Hartig net)的構造。內生菌根的主要特徵在於其菌絲會進入植物細胞內，以菌絲捲(hyphal coil)或叢枝(arbuscule)構造等方式與植物細胞有較緊密的接觸。有些菌根因具有內生與外生菌根的構造，而被稱爲內外生菌根(ectendomycorrhiza)。

所謂囊叢枝內生菌根 (vesicular-arbuscular mycorrhiza，簡稱 VAM) ，係指植物根部受囊叢枝內生菌根菌感染後，菌絲因在根部皮層細胞內形成細小雙叉分支的叢枝體，以及在菌絲末端或中段膨大形成囊泡 (vesicle) 而得名。近年來由於並非所有的菌根菌 (如*Gigaspora, Scutellospora*) 皆可於根內形成上述兩種構造，因此國外已有不少學者改稱此種菌根爲叢枝菌根 (arbuscular mycorrhiza，簡稱 AM) 。*Gigaspora* 和 *Scutellospora* 兩屬的菌根菌，其囊泡 (soil-borne vesicle) 是產生於根外土壤中。

由於囊叢枝內生菌根菌的根外菌絲 (external mycelium) 可以延伸至根外八公分甚或更長的距離[12]，所以它能幫助宿主 (host plant) 廣泛地吸收土壤中的養分特別是磷肥，進而對作物有促

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第1900號。
2. 本所農化系副研究員、助理、約僱助理、約僱助理、約僱助理。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

進生長的效用[4]。也因爲如此，囊叢枝內生菌根菌被認爲是一種生物肥料。我國的囊叢枝內生菌根菌的族群數量有普遍偏低的現象，特別是在施肥過多的耕地土壤中。經調查臺灣省農業試驗所的土壤，發現我國農田中的菌根菌孢子數大多低於20個孢子／100克土[19]，甚至於有找不到孢子的情形（尙未發表資料）。這是由於我國長期施用過量的化學肥料與農藥所造成的微生物生態的危機。我國近幾年來，國民對於安全農產品的品質越來越重視。對於如何減少農藥與化學肥料的使用，似乎是未來我國農業生產的走向。因此如何開發取代部份化學肥料與農藥的生物性資材便更形重要。

目前歐美各國已嘗試下列方法來培養囊叢枝內生菌根菌做爲接種源。㈠傳統盆栽法（pot culture）[9]。㈡氣霧式栽培法（aeroponic culture）[14]。㈢根器培養法（root organ culture）[11]。

傳統式的盆栽法，係將盆栽用的沙土予以高溫殺菌後，將菌根菌孢子與宿主植物的幼苗置於盆中，而達到接種繁殖的目的。若要利用此法生產種源，所需的時間較長，且所得的種源數量與密度均不易掌握。此外，使用沙土爲培養介質，菌土較重且所需人力亦多，不符合工業化大量生產的經濟原則。但是若將介質改爲質量輕而且乾淨的珍珠石、蛭石、蒙特石等其它介質時，本法的普遍性與適用性便大大提升。日本方面的菌根菌產品 Dr. Kinkon，便是以蒙特石爲介質混入活性碳等生產的生物性肥料。

根器官培養法是利用農桿菌（*Agrobacterium rhizogenes*）誘導胡蘿蔔的根，使之產生轉型根。在人工培養基上，將已消毒且發芽的菌根菌孢子，移至長有轉型根的培養皿中與根共生，而達到產孢的目的。雖然本法可以生產無雜菌之純種菌源，但是目前只有三或四種菌根菌（*Glomus intraradices* Schenck & Smith, *G. mosseae*（Nicol. & Gerd.）Gerd. & Trappe, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *G. gigantea*（Nicol. & Gerd.）Gerd. & Trappe）培養成功，而未達實用的階段[2,8,10,11]。本培養法所面臨的最大瓶頸是在於很難獲得無菌或較乾淨的孢子，以及產孢條件的掌握等。但是在大量生產菌源的前提下，根器官菌根菌培養技術仍有它值得開發研究的遠景，因爲此技術可以在很小的空間內（培養皿及生長箱）進行更大規模的菌源生產，且不需投入目前的沙耕或氣霧耕法所需要的溫室及人力。加拿大方面目前以此技術生產 *G. intraradices*，爲一種生物性肥料“Mycorise”，本產品係泥炭苔、珍珠石及菌根菌混合而成。售價爲每30公升16～18元加幣，保證孢子含量爲2100孢子／公升。

氣霧式菌種繁殖法，係在氣霧栽培箱內，將營養液打成霧狀後，經接種的植株懸浮於箱內，而直接產孢於空氣中。氣霧式栽培法培養的宿主，可在無土的情況下大量生產菌根種源，且在老根採收後，新根又繼續生長，造成種源生產旣快速又不中斷的生產線。氣霧式栽培法所生產的菌根經採收風乾後，質量輕可以直接郵寄或混合其它介質，直接變爲商品。由於氣霧式培養法所生產的菌種遠較砂耕法來得乾淨且少污染，因此，本培養法的研究將有助於提升我國菌根菌無土介質繁殖技術的開發，甚至能突破根器官培養法目前所面臨的瓶頸。

本文主要報告本所氣霧式叢枝內生菌根菌生產技術的研究情形，包括不同菌根菌菌種的氣霧繁殖，菌種在不同宿主植物的產孢情形，氣霧式生長箱的環境因子的監控，以及保存期限的測試等。

材料與方法

一、菌根菌的分離

採取甘藷、玉米、百喜草等植物根圈土壤。稱取100克土後，以濕篩法和糖液離心法[3,6]分離孢子後，在立體顯微鏡下計算孢子數量並挑取孢子（圖1），以 Polyvinyl alcohol lactophenol（PVLG）[7]或 Hoyer's 包埋劑製成半永久片，以利於孢子的鑑定與標本之保存。經鑑定後的孢子，以百喜草或其他適當的宿主，在溫室中培養繁殖並計算其產孢量。

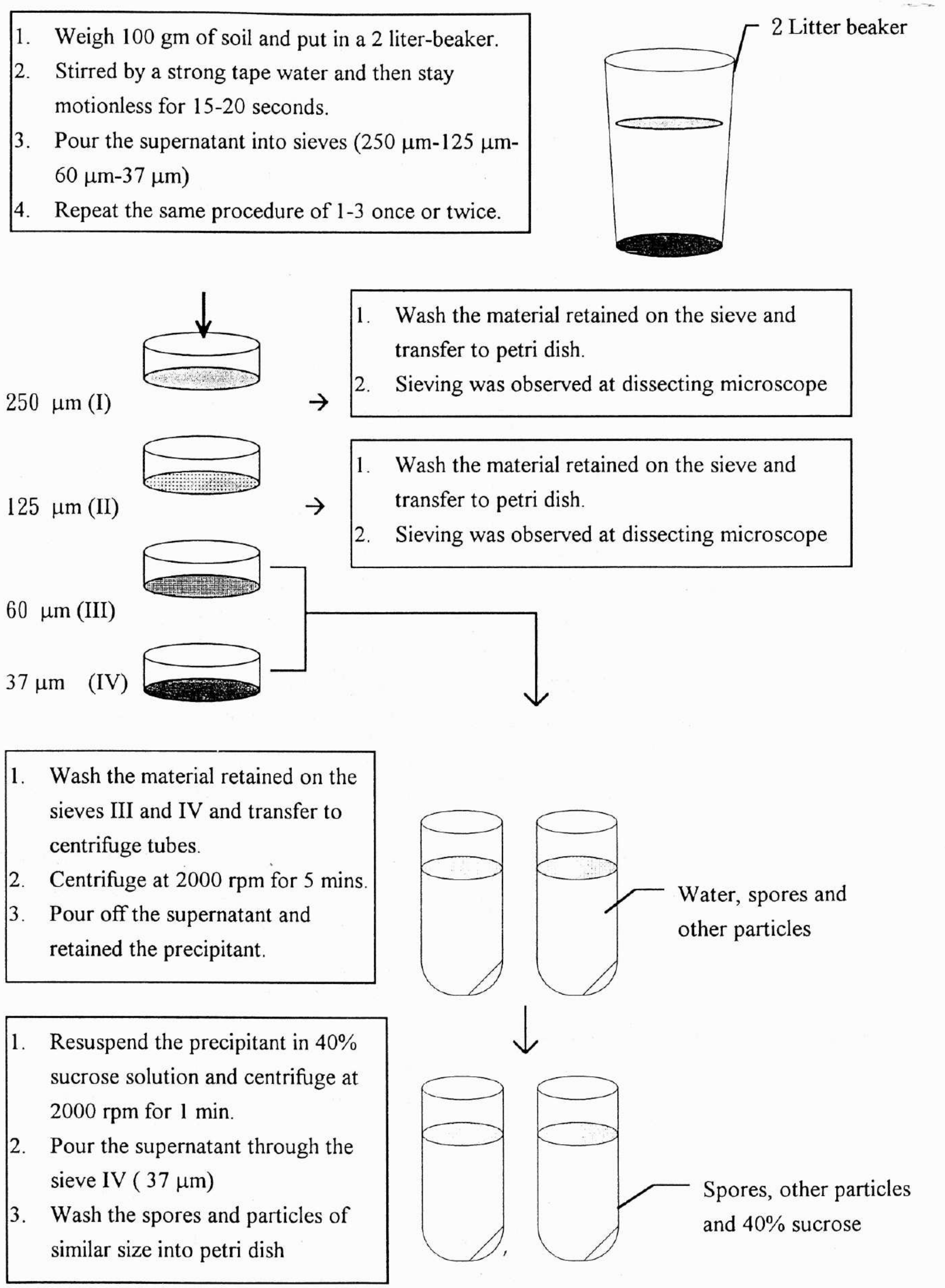


圖 1. 分離及純化繁殖菌根菌操作流程

Fig. 1. Protocol for spore isolation and purification of VA mycorrhizal fungi.

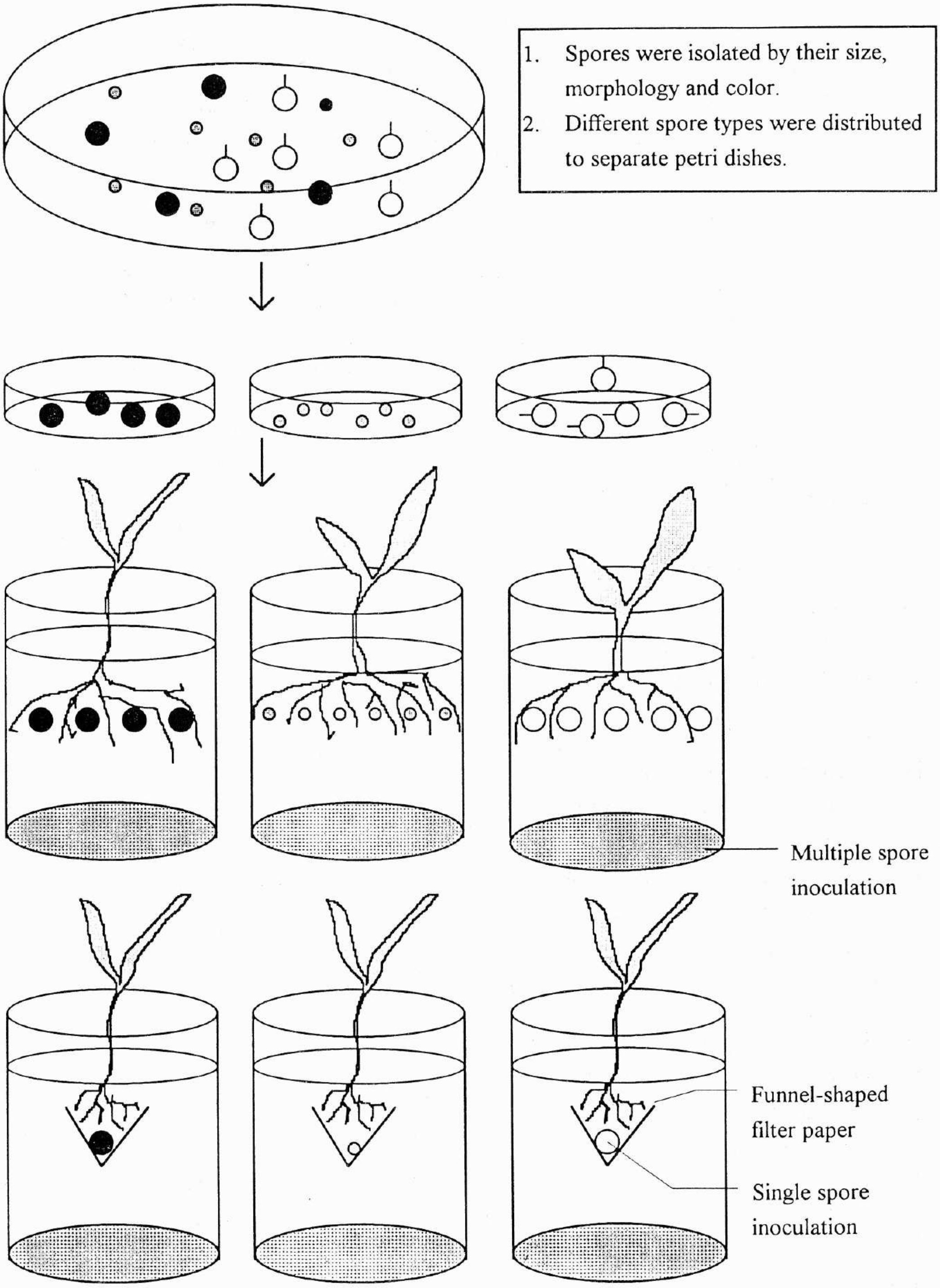


圖 1. 分離及純化繁殖菌根菌操作流程（續）

Fig. 1. Protocol for spore isolation and purification of VA mycorrhizal fungi. (cont' d)

二、氣霧式栽培試驗

選取適當的菌種，以蕹菜（*Ipomoea reptans* (L.) Poir），甘藷（*Ipomoea batatas* (L.) Lam. *var. Edulis* Mak.），百喜草（*Paspalum notatum* Flugge）等植物為宿主於溫室內做接種試驗。兩週後經由染根確定有菌根菌感染者，移株至氣霧式培養箱（圖 2），觀察其產孢情形，並記錄箱內溫濕度以及營養液的水溫及酸鹼值的變化。營養液每二週更換一次，其配方及各種養分的含量如表 1 ～ 3。經三至四個月後採收，計算產孢數量。將植株根部採收陰乾後，收藏於攝氏4°C之冷藏庫內。

表 1. 氣霧用營養液母液配方

Table 1. Nutrient stock solutions for aeroponic culture of VAM fungi.

Stock solution	Pure chemical compound (gL^{-1})
0.01M KH_2PO_4	1.36
1M KNO_3	101.11
1M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	263.15
0.1M NaFeEDTA	36.70
0.1M NaCl	5.84
1M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246.48
Micronutrients (combined in one solution)	
H_3BO_3	2.86
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.81
$ZnSO_4 \cdot 5H_2O$	0.22
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.80
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.016

表 2. 為配一公升營養液，各種母液的取用量

Table 2. Preparation for 1 liter of nutrient solution.

Stock solution	($mL.L^{-1}$)
0.01M KH_2PO_4	0.3
1M KNO_3	1.5
1M $Ca(NO_3)_2$	1.5
0.1M NaFeEDTA	0.3
0.1M NaCl	0.45
1M MgSO4	0.6
Micronutrients	0.3

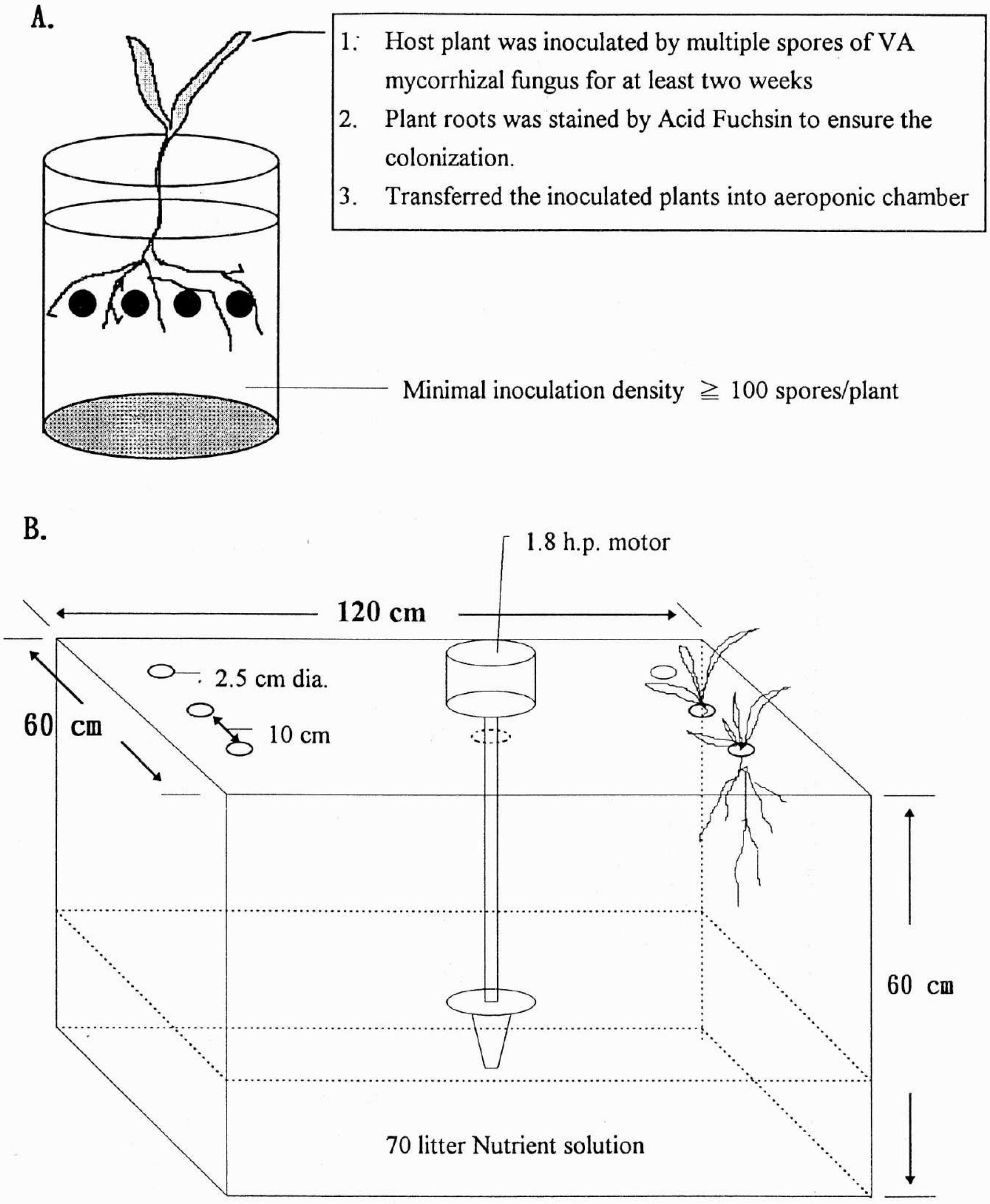


圖 2. 氣霧式培養叢枝內生菌根菌流程

Fig. 2. Propagation of VA mycorrhizal fungi by aeroponic system.

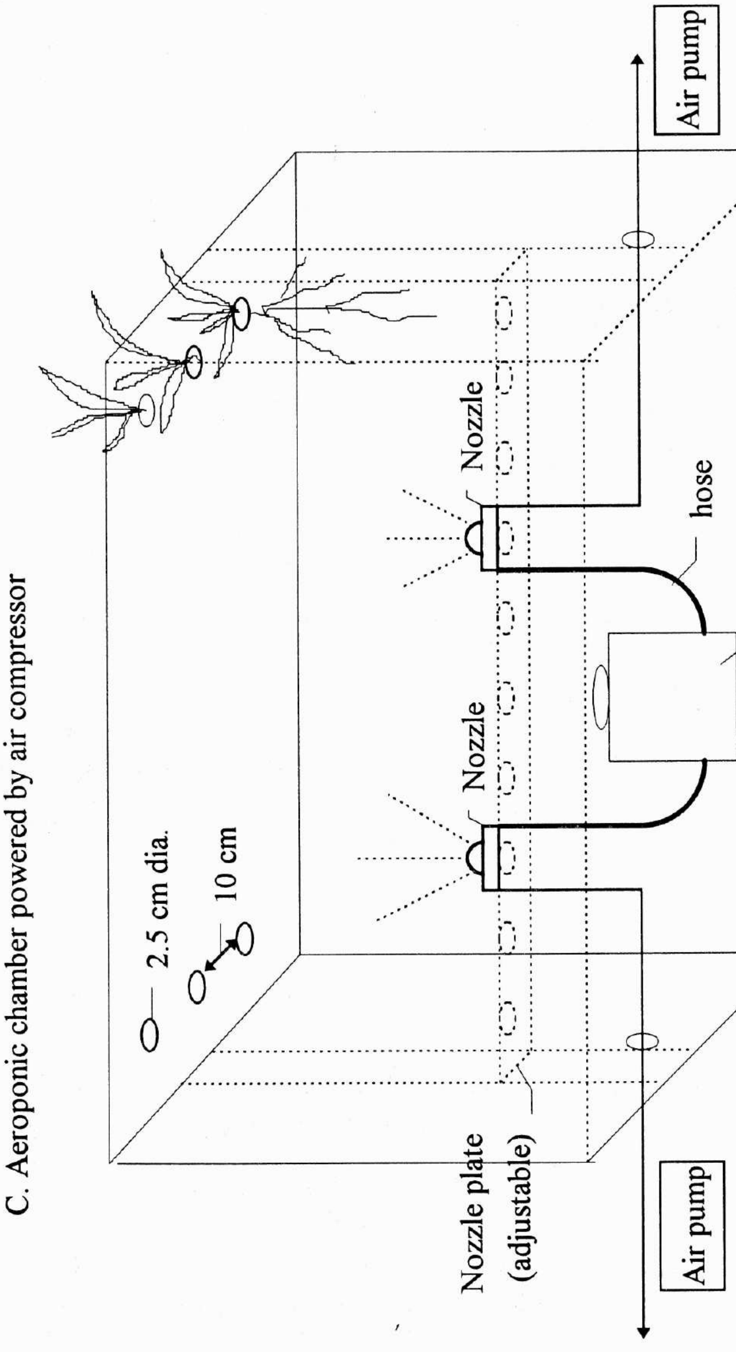


圖 2. 氣霧式培養叢枝內生菌根菌流程 (續)

Fig. 2. Propagation of VA mycorrhizal fungi by aeroponic system. (cont' d)

表 3. 氣霧式培養液各種元素之最後濃度
Table 3. Final concentration of elements in aeroponic culture solution.

Element	Concentration (ppm)
Nitrogen	62.8
Phosphorus	0.0927
Potassium	58.7
Calcium	60.1
Magnesium	14.5
Sulfur	19.2
Chlorine	1.79
Sodium	1.72
Iron	1.6
Boron	0.15
Manganese	0.15
Zinc	0.015
Copper	0.006
Molybdenum	0.0018

三、菌根菌種源儲存期限試驗

將氣霧式培養法所生產的菌根切成一公分的段落後，儲存於4°C的冷藏庫中，定期取出做接種試驗，觀察其對百喜草的感染能力。百喜草種子消毒後，於生長箱內發芽育苗。取0.1克的乾燥菌根作爲接種原，放置於植株幼苗的下方，進行感染試驗。根部有菌根菌感染者，表示菌種仍具有活力。

結果與討論

一、氣霧式產孢研究

本研究中共分離 *Glomus aggregatum* Schenck & Smith, *G. mosseae, G. geosporum* (Nicol. & Gerd.) Walker, *G. intraradices, G. manihotis* Schenck *et al., G. microaggregatum* Koske *et al., G. pansihalos* Berch & Koske, *Acaulospora laevis* Gerd. & Trappe, *Entrophospora kentinensis* Wu & Liu 等九種菌種。這些菌種在盆栽中的最大繁殖菌數如表 4 所列。茲將本研究室已進行之十四次氣霧式菌根生產結果如表 5。以產孢量而言利用百喜草所繁殖的 *Glomus microaggregatum*/*G. intraradices* 最多可達每克乾根重達71,283個孢子。由表 5 中可見百喜草的產孢能力較其它宿主如甕菜及甘藷爲佳。在屏東技術學院的研究中也得到類似結論，百喜草的產孢量優於蕃茄或玉米[16]。就相同菌種如 *G. mosseae* 而言，以百喜草所生產的菌根孢子數是甕菜所生產的0.7～4.3倍。就 *Entrophospora kentinensis*/*G. intraradices* 的複合菌種而言，百喜草爲宿主的產孢量是甕菜的1.7倍。就相同菌根種如 *G. mosseae* 而言，百喜草每一克的乾根重在氣霧式生長箱所生產的菌種量相當於砂耕法1700ml 的介質的總生產量（比較表 4 及表 5）。

表 4. 不同囊叢枝內生菌根菌種在溫室盆栽內之最高產孢情形
Table 4. Maximal spore production of VA mycorrhizal fungi in pot cultures.

Species	Maximal spore number in 50 ml medium[z] (=28gm)
Entrophospora kentinensis	905 (252± 195)[yy]
G. mosseae	1,100 (514± 480)
G. intraradices	271 (132± 106)
G. aggregatum	1,933 (1,004±1,020)
G. geosporum	1,243 (349± 386)
G. ponsihalos	637 (299± 242)
G. mosseae/Acaulospora laevis	4,530 (1,020±1,730)
Acaulospora laevis	4,650 (1,374±1,355)

[z] Medium : Vermicuit, Pearlite, and Peat moss. Host plant : Bahia grass.
[y] The number in parenthesis is the average of spore production per 50 ml medium in 6 duplicates.

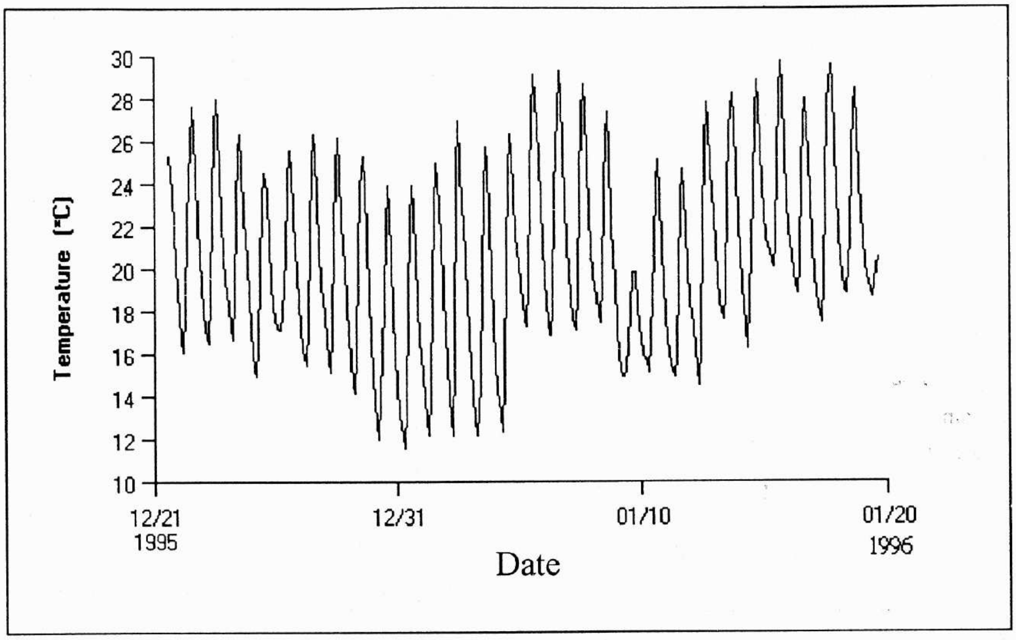
表 5. 各種叢枝內生菌根菌與不同宿主在氣霧式生長箱內之產孢情形
Table 5. Spore production of VA mycorrhizal fungi with different host plants.

Sample no/ Species	Host plant	Growth period (mo.)	Harvest date	Total dry weight(g)	Spore no./ sec. cm	Spore no./ gm dry root
1. LMOS[z]	I.R.[z]	3	10/22/93	22.57	18.74± 9.1	15,616± 6,589
2. EKTN/LITR	P. N.	3	10/22/93	13.2	63.04±30.2	52,533±19,801
3. LGSP	I. R.	3	10/22/93	10.39	3.56± 1.5	2,967± 1,356
4. LMAG/LITR	P. N.	3	10/22/93	3.96	85.48±41.2	71,283±41,204
5. LITR	P. N.	3	02/16/94	1.82	38.64±14.2	32,200±17,803
6. LMOS	I. R.	3.5	02/21/94	9.3	6.54± 3.2	5,450± 3,505
7. EKTN/LITR	I. R.	3.5	02/23/94	24.04	36.34±15.9	30,283±17,801
8. ALVS/LMOS	I. B.	3	05/23/94	12.18	7.7± 3	6,416± 2,891
9. LMOS	P. N.	4	07/07/94	36.94	27.94±11.3	23,283±10,521
10.LITR/LMNH	P. N.	3	09/02/94	38.18	76± 44	54,542±31,764
11.LAGG	P. N.	3	11/04/94	48.14	6.15± 3	2,795± 1,295
12.LPSH	P. N.	3	06/26/95	31.47	1.99± 1.3	1,432± 815
13.LMAG/LITR	P. N.	2	09/25/95	8.44	7.52± 4.6	7,520± 4,639
14.ALVS	P. N.	3	12/23/95	8.17	24.05±11.2	17,260±13,110

[z] LMOS : *Glomus mosseae*, LITR : *Glomus intraradices*, EKTN : *Entrophospora kentinensis*, LGSP : *Glomus geosporum*, LAGG : *Glomus aggregatum*, ALVS : *Acaulospora laevis*, LMNH : *Glomus manihotis*, LPSH : *Glomus pansihalos*, LMAG : *Glomus microaggregatum*
[y] I. R. : *Ipomoea reptans*, I. B. : *Ipomoea batatas*, P. N. : *Paspalum notatum*

本研究中氣霧生長箱已能生產如 *Acaulospora* 和 *Entrophospora* 屬的菌種。由於目前世界上以氣霧式生長箱所生產的菌種，只限於 *Glomus* 屬[5,14,16]。因此，本所所成功培養的這兩屬孢子，是目前世界上首次成功的先例。其中有關 *E. kentinensis* 的產孢研究已於1995年發表於美國 Mycologia 期刊[18]。

有關氣霧箱之生態環境因子如酸鹼值及溫濕度變化結果如圖 3 及表 6 。營養液的酸鹼值經兩週宿主的生長後呈略為上昇的現象。有關培養箱內營養液的溫度，在冬季約在12～30°C之間，在夏季則約在26～35°C之間，培養箱內的濕度則在大多數時間內維持在100%。



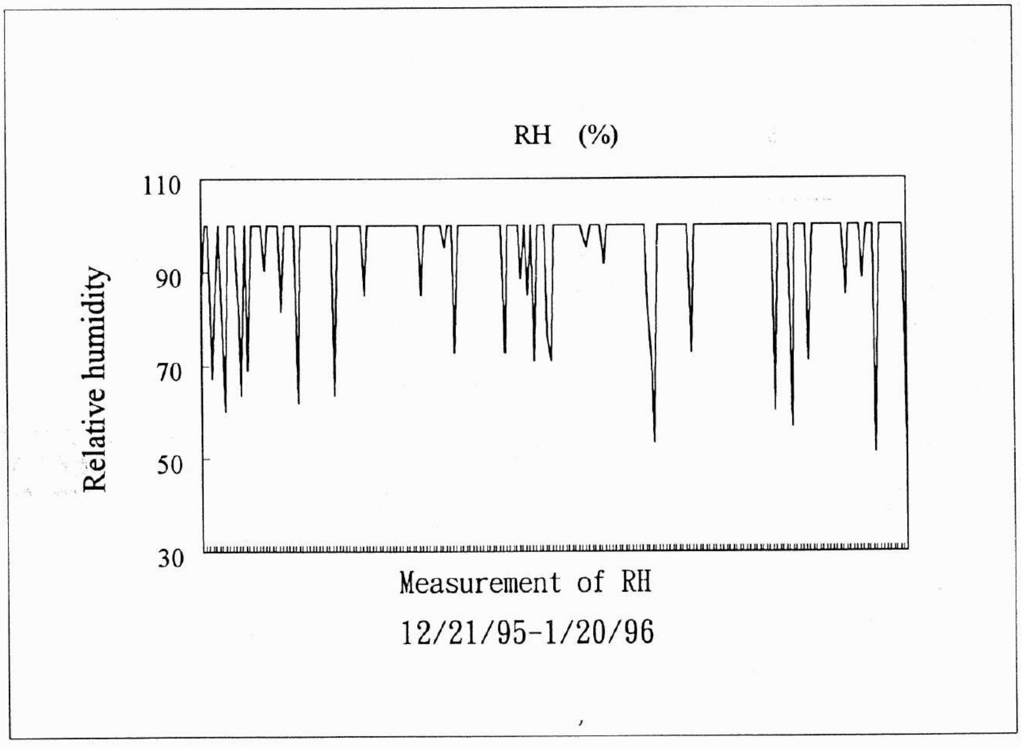


圖 3. 氣霧箱內日夜溫濕度變化情形

Fig. 3. Humidity change in the aeroponic chamber.

表 6. 氣霧式菌根菌生長箱營養液溫度及酸鹼値變化記錄

Table 6. Changing of pH and temperature in nutrient solution

Treatments[z]		pH change		Day Temperature change	
Test 1 : 93.7.22	N. S. C.#	0Day	14Day	0Day	14Day
Host plant : I. R.	1	6.53	7.18	27	29.4
Species : LMOS	2	6.53	6.55	26.5	27.5
	3	6.52	6.53	28.5	27.7
	4	6.45	6.68	27.3	26.9
	5	6.49	6.83	26	25.2
Average		6.50±0.03	6.75±0.27	27.06±0.94	27.34±1.51
Test 2 : 93.7.22	1	6.49	7.12	28	29.9
Host plant : I. R.	2	6.47	7.02	26.2	28.2
Species : LGSP	3	6.54	6.89	27.3	28.3
	4	6.5	6.95	26.1	27.5
	5	6.5	6.99	26	26
Average		6.50±0.03	6.99±0.09	26.72±0.89	27.98±1.40
Test 3 : 93.11.9	1	6.51	6.84	28.5	19.6
Host plant : I. R.	2	6.56	6.46	21	27.6
Species : LMOS / EKTN	3	6.48	5.65	23.1	16.3
	4	6.52	7.41	21.7	20
	5	6.43	6.51	21.9	17.5
	6	6.58	6.46	19.6	19.6
		6.51±0.05	6.56±0.57	22.6±3.1	20.1±3.9
Test 4 : 93.11.9	1	6.55	6.54	25.9	19.6
Host plant : P. N.	2	6.47	7.72	22.7	27
Species : LITR	3	6.51	7.47	23	14.8
	4	6.56	6.96	20.2	20.5
	5	6.59	6.03	22.5	21.5
Average		6.54±0.05	6.94±0.69	22.9±2.0	20.7±4.4
Test 5 : 94.2.16	1	6.51	6.8	20.6	16.6
Host plant : I. B.	2	6.46	6.77	19.8	18.1
Species : LMOS / A. sp.	3	6.56	6.64	19.7	20
	4	6.49	6.99	22	28.1
	5	6.52	6.77	25.5	25.3
	6	6.5	6.47	27	28.8
Average		6.51±0.03	6.74±0.17	22.4±3.1	22.8±5.3

表 6. 氣霧式菌根菌生長箱營養液溫度及酸鹼值變化記錄（續）
Table. 6. Changing of pH and temperature in nutrient solution (cont' d)

Treatments[z]		pH change		Day Temperature change	
Test 6：94.3.2	N. S. C.#	0Day	14Day	0Day	14Day
Host plant：P. N.	1	6.57	6.69	20.5	18.9
Species：LMOS	2	6.51	6.76	20.9	22
	3	6.52	7.39	22.5	30.1
	4	6.5	6.85	26	29.2
	5	6.54	6.34	27	28.1
	6	6.49	6.79	25.8	32
	7	6.51	6.82	21.6	34.2
Average		6.52±0.03	6.80±0.30	23.5±2.7	27.8±5.5
Test 7：94.6.3	1	6.53	7.32	26.1	32.8
Host plant：P. N.	2	6.45	6.91	26.4	33.9
Species：LITR/LMNH	3	6.47	6.76	28.3	35
	4	6.51	6.59	27	27.2
	5	6.56	6.24	26.4	29.3
Average		6.50±0.04	6.76±0.40	26.8±0.9	31.6±3.3
Test 8：94.7.21	1	6.52	6.79	27.1	29.9
Host plant：P. N.	2	6.52	6.8	26.2	27.5
Species：LAGG	3	6.46	6.72	27.8	27.2
	4	6.57	6.63	26.4	24.7
	5	6.54	6.66	26.1	24.5
Average		6.52±0.04	6.72±0.08	26.7±0.7	26.8±2.2
Test 9：94.9.2	1	6.57	7.31	26.6	26.7
Host plant：I. B.	2	6.62	6.94	25.7	24
Species：ASCB	3	6.47	6.66	26.5	25
Average		6.60±0.10	6.97±0.33	26.3±0.5	25.2±1.4
Test 10：95.3.24	1	6.55	6.58	29.7	22.3
Host plant：P. N.	2	6.5	6.63	25.3	26
Species：LPSH	3	6.62	6.54	24.4	24.3
	4	6.51	6.7	26.1	25.6
	5	6.51	6.98	24	29.3
Average		6.54±0.05	6.69±0.17	25.9±2.3	25.5±2.6
Test 11：95.4.8	1	6.6	6.67	29.9	27
Host plant：P. N.	2	6.52	6.61	25	25.9
Species：LMOS/LGSP	3	6.49	7.21	25.2	26
	4	6.52	7.34	25	30.8
Average		6.53±0.05	6.96±0.37	26.3±2.4	27.4±2.3

N. S. C.#：Change no. of nutrient solution
[z] same as in Table 5.

二、菌種儲藏時限

以測試的複合菌種 *Entrophospora kentinensis/ Glomus intraradices* 爲例，目前本研究室在氣霧箱所生產的菌根，經風乾後，於 4°C冷藏24個月後，其活力不受影響。有關其儲藏時限測試仍在繼續進行中。美國佛羅里達大學所做的試驗顯示於 4°C冷藏可達22個月[13]。

三、內柄生孢子屬（*Entrophospora*）的產孢研究

Entrophospora kentinensis Wu et Liu 是首次在南臺灣墾丁國家公園內的本地植物狗尾草（*Setaria viridis*（L.）Beauv.）的根域土壤中發現的囊叢枝內生菌根菌[17]。在稍後的調查中發現本種的分佈很廣，到處可發現它的蹤跡且土壤酸鹼值在5.71至7.94之間。*Entrophospora kentinensis* 甚至可在銅污染達233ppm 的土壤中發現。*Entrophospora kentinensis* 可以用百喜草或甘藷以氣霧式栽培法培養並形成典型的囊叢枝內生菌根。孢子可在宿主植物移植於氣霧式生長箱六週後開始產孢。產孢囊泡可在根外菌絲或根內形成。初期囊泡內會聚集濃密的細胞質，並於囊泡柄內形成一隔板。稍後，囊泡內的細胞質向下移動進入柄內，細胞質並轉化沈積而形成孢子。產孢囊泡和囊泡柄在孢子成熟後會萎縮脫落，因此在孢子外壁上會留下兩個一大一小的圓形痕跡[17,18]（圖 4）。

四、無柄孢子屬（*Acaulospora*）的產孢研究

Acaulospora 屬的囊叢枝內生菌根菌，產孢方式與 *Entrophospora* 類似。所不同的是孢子著生於產孢囊泡的柄外。本研究以無柄孢子（*Acaulospora laevis*）經接種於百喜草或甕菜的根部後，移植於氣霧式培養箱內。菌根菌先於根部表面形成厚約70～80μm 的菌絲層後（約六週後）開始產孢。產孢前先形成半透明囊泡體（vesicle），亦即產孢囊泡（sporiferous saccule）。此時，有一隔板形成於囊泡柄的下方，阻斷了囊泡內細胞質往下流動的通路。由於產孢囊泡內形成的壓力，迫使細胞質向囊泡柄的側面吹出而膨大形成孢子。當孢子成熟後，產孢囊泡萎縮脫落並在孢子外壁上留下一個圓形的疤痕[18]（圖 4）。這單一的圓形疤痕是與 *Entrophospora* 區別的重要依據。

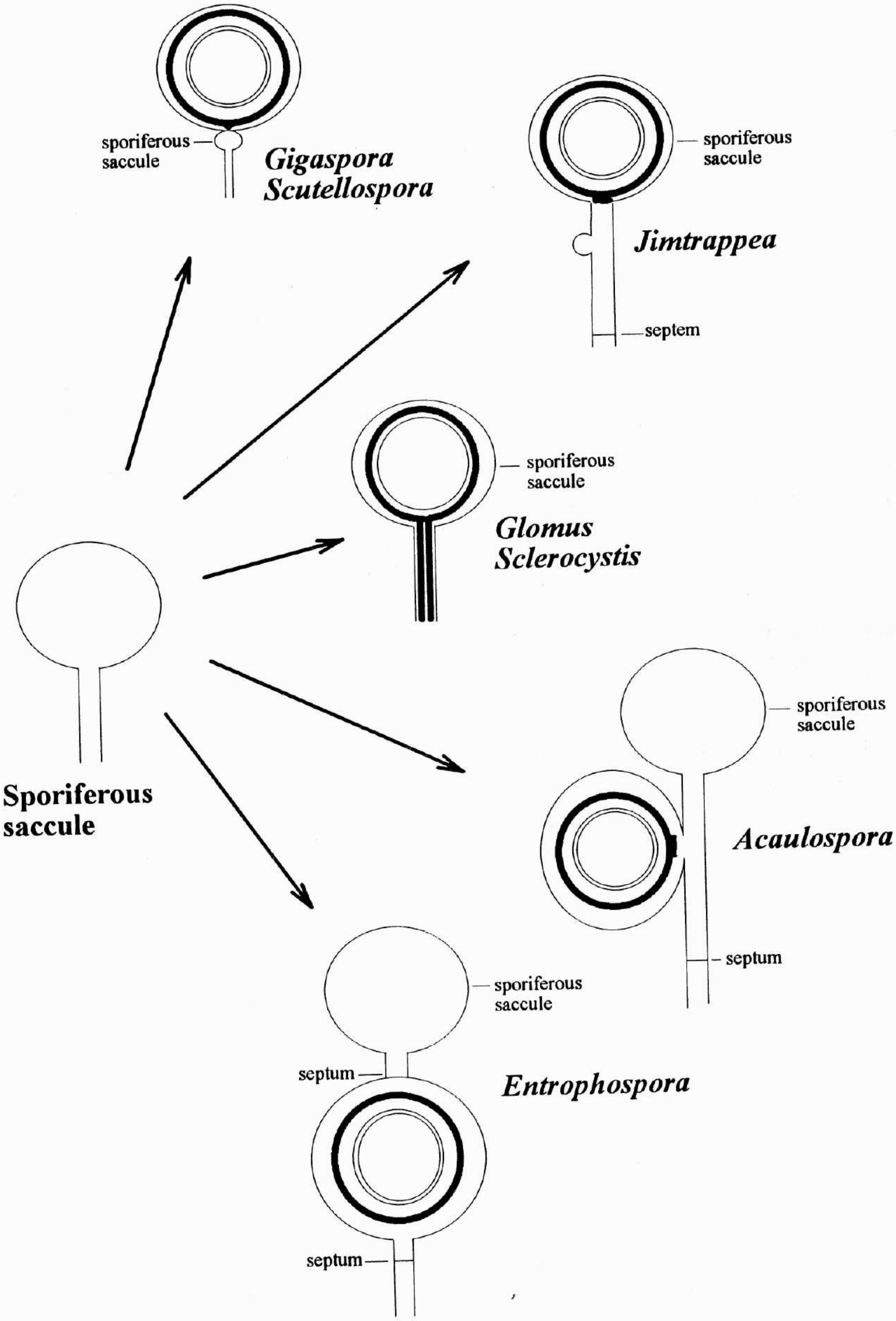


圖 4. 囊叢枝內內生菌根菌各屬產孢情形

Fig. 4. Comparison of spore ontogeny in different genera of VA mycorrhizal fungi.

誌　　謝

本研究感謝農委會計畫（82科技－2.4－糧－22；83科技－2.6－糧－57；84科技－2.6－糧－16；85科技－1.7－糧－22）及國科會計畫（NSC 83－0409－B－055－008；NSC 84－2321－B－055－001；NSC 85－2321－B－003－A12）的支持。此外，本技術得以成功要特別感謝美國洪玲玲博士。她於民國八十二年應農委會邀請訪問我國，並指導發展氣霧式菌根菌繁殖技術。

引用文獻

1. Frank, A. B. 1885. Uber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernahrung gewisser Baume durch unterirsische Pilze. Ber. Deut. Bot. Gesell. 3 : 128—145.
2. Chabot, S., G. Becard, and Y. Piche. 1992. Life cycle of *Glomus intraradix* in root organ culture. Mycologia 84(3) : 315—321.
3. Daniels, B. A. and H. D. Skipper. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of progagules from soil. pp. 20—45 *In* : Methods and principles of mycorrhizal research. Ed. N. C. Schenck, The American Phytopathological Society, St. Paul.
4. Harley, J. L. and S. E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.
5. Hung, L. L. and D. M. Sylvia. 1988. Production of vesicular arbuscualr mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. App. Environ. Microbiol. 54 : 353—357.
6. Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Dis. Rep.48 : 692.
7. Koske, R. E. and B. Tessier. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. Newsletter Mycol. Soc. Amer. 34(2) : 59.
8. Leu, S. W., S. T. Lian, and D. C. N. Chang. 1994. In vitro sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Gigaspora gigantea* and *Glomus mosseae*, by dual culture with carrot Ri T-DNA transformed root and tomato root culture. Mem. Coll. Agric. Nat' l Taiwan Univ. 34(1) : 31—32.
9. Menge, J. A. 1984. Inoculum production. pp. 187—203. *In* : VA mycorrhiza. Eds. C. L. Powell and D. J. Bagyaraj. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
10. Mosse, B. 1988. Some studies relating to "independent" growth of vesicular-arbuscular endophytes. Can. J. Bot. 66 : 2533—2540.
11. Mugnier, J. and B. Mosse. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically. Phytopathology 77 : 1045—1050.
12. Sieverding, E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. P. 371, Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammernarbeit (GTZ) GmbH, Germany.
13. Sylvia, D. M. and A. G. Jarstfer. 1994. Production of inoculum and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. pp. 231—238. *In* : Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry. Eds., A. D. Robson, L. K. Abbott, and N. Malajczuk. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
14. Sylvia, D. M. and D. H. Hubbell. 1986. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems. Symbiosis 1 : 259—267.
15. Taylor, T. N., W. Remy, H. Hass, and H. Kerp. 1995. Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. Mycologia 87 : 560—573.
16. Wang, C. L. 1994. Mass production of mycorrhizal fungus inoculum by domestic aeroponic culture. pp. 165—172. *In* : Proceeding of Symposium on development and application of microbial fertilizer, Eds. C. C. Tu, Y. S. Chen and M. F. Chun. Chiayi Station, TARI, Chiayi.

17. Wu, C. G., Y. S. Liu, Y. L. Hwung, Y. P. Wang and C. C. Chao. 1995. Glomales of Taiwan : V. *Glomus chimonobambusae* and *Entrophospora kentinensis, spp. nov.* Mycotaxon 53 : 283—294.

18. Wu, C. C., Y. S. Liu, and L. L. Hung. 1995. Spore developmen of *Entrophospora kentinensis* in an aeroponic system. Mycologia 87(5) : 582—587.

19. Wu, C. G., S. Y. Chien. and T. W. Tan. 1995. Microbial succession in different rotation cropping systems. J. Agric. Res. China 44(2) : 114—125.

46-2-8

Spore Production of VA Mycorrhizal Fungi in Aeroponic System[1]

Chi-Guang Wu, Suh-Jen Lin, Hsiu-Yueh Chang, Chun-Fuar Chiu and Shun-Yuang Lin[2]

Summary

In this study, host plants such as *Ipomea reptans,* bahia grass (*Paspalum notatum*) and sweet potato (*I. batatas*) were preinoculated by VA mycorrhizal fungi in greenhouse. After two weeks, plants were then moved to aeroponic chamers for soilless cultivation. In 14 experiments, this technique has proven to grow more than nine species of VA mycorrhizal fungi, including *Glomus aggregatum. G. mosseae, G. geosporum, G. microaggregatum, G. intraradices, G. pansihalos, G. manihotis, Acaulospora laevis, Entrophospora kentinensis.* Among them, the cultivation of *Acaulospora* and *Entrophospora* by this technique are new records to the world. Besides. *E. kentinensis* was a new species from National Kentin Park. It was nationwide and even found in soil with copper pollution up to 233 ppm. This species is an addition to the three of *Entrophospora* which were generally found in acidic soil. Bahia grass could produce more spores than *I. reptans* and sweet potato, bsed on the same species of VA mycorrhizal fungi.

Key words : Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, Aeroponic cultivation, Mycorrhizal inoculant, *Entrophospora, Acaulospora, Glomus.*

---

1. Contribution No.1900 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by the national Science Council and Council of Agriculture (NSC83-0409-B-055-008 ; NSC84-2321-B-055-001 ; NSC85-2321-B-003-A12 ; 82-AST-FAD-2,4-22 ; 83-AST-FAD-2,6-57 ; 84-AST-FAD-2,6-16 ; 85-AST-FAD-1,7-22) .
2. Soil Microbiologist, Assistant Microbiologist, Research Assistant, Research Assistant, Research Assistant, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.